

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 村上 和華子

〔題名〕

組み換え心房性ナトリウム利尿ペプチドは不全心筋細胞においてイソプロテレノールによるミトコンドリアROS産生を抑制し、リアノジン受容体を介した異常なCa²⁺ leakを是正する

〔要旨〕

目的：心不全において、カテコラミンはROSの産生を誘導し、リアノジン受容体からの異常な拡張期Ca²⁺ leakを増加させる。ROSの産生やCa²⁺制御に対する心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）の作用に関しては不明な点が多い。我々は外因性ANPを用いて、ANPの心筋保護効果や作用機序について検討した。

方法と結果：イヌ頻拍誘発性心不全モデルの単離心筋細胞を用いて、酸化DNAに対する抗8-hydroxy-2'-deoxyguanosine抗体とミトコンドリアに対する抗VDAC抗体による二重免疫染色を行い、ミトコンドリアDNAにおける酸化的障害を評価した。また共焦点顕微鏡を用いて、ROSに対する蛍光プローブである2,7-dichlorofluorescein diacetateにより、ANPがROSに与える影響を検討した。更にCa²⁺ sparkのプローブであるFluo-4AMを用いて、Ca²⁺ spark頻度を測定した。最後に培養心筋細胞の生存率を求めた。不全心筋細胞における二重免疫染色では、イソプロテレノール（ISO）はミトコンドリアDNAの酸化的障害を促進させたが、ANP存在下においてはISOによるDNAの酸化的障害は抑制された。また、不全心筋細胞では、正常心筋細胞に比較してROSの産生やCa²⁺ sparkの増加を認め、ISO存在下では、より顕著となったが、ANP存在下では有意に抑制され、且つ、筋小胞体内のCa²⁺含有量に変化は認められなかった。不全心筋細胞の生存率は正常心筋細胞と比較して有意に低下し、ISO存在下ではより顕著となったが、ANP存在下において生存率の改善が認められた。

結語：ANPはISOによって誘導されたミトコンドリアにおけるROSの産生を抑制し、異常なCa²⁺ leakを是正することで、心筋細胞の生存率を改善させた。このように、心不全におけるANPの新たな心筋保護効果が示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用医工学系 (医学系)

| | | | |
|--|------------|-------|--------|
| 報告番号 | 甲 第 1474 号 | 氏 名 | 村上 和華子 |
| 論文審査担当者 | 主査教授 | 廣野 公一 | |
| | 副査教授 | 小林 誠 | |
| | 副査教授 | 矢野 雅文 | |
| <p>学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)</p> <p>組み換え心房性ナトリウム利尿ペプチドは不全心筋細胞においてイソプロテレノールによるミトコンドリア ROS 産生を抑制し、リアノジン受容体を介した異常な Ca²⁺ leak を是正する</p> | | | |
| <p>学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)</p> <p>Recombinant Atrial Natriuretic Peptide Prevents Aberrant Ca²⁺ Leakage through the Ryanodine Receptor by Suppressing Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production Induced by Isoproterenol in Failing Cardiomyocytes. (組み換え心房性ナトリウム利尿ペプチドは不全心筋細胞においてイソプロテレノールによるミトコンドリア ROS 産生を抑制し、リアノジン受容体を介した異常な Ca²⁺ leak を是正する)</p> <p>掲載雑誌名 PLoS One 第 11 巻 第 9 号 (2016 年 9 月 掲載)</p> | | | |
| <p>(論文審査の要旨)</p> <p>目的: 心不全において、カテコラミンは ROS の産生を誘導し、リアノジン受容体からの異常な拡張期 Ca²⁺ leak を増加させる。ROS の産生や Ca²⁺ 制御に対する心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) の作用に関しては不明な点が多い。我々は外因性 ANP を用いて、ANP の心筋保護効果や作用機序について検討した。</p> <p>方法と結果: イヌ頻拍誘発性心不全モデルの単離心筋細胞を用いて、酸化 DNA に対する抗 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine 抗体とミトコンドリアに対する抗 VDAC 抗体による二重免疫染色を行い、ミトコンドリア DNA における酸化的障害を評価した。また共焦点顕微鏡を用いて、ROS に対する蛍光プローブである 2,7-dichlorofluorescein diacetate により、ANP が ROS に与える影響を検討した。更に Ca²⁺ spark のプローブである Fluo-4AM を用いて、Ca²⁺ spark 頻度を測定した。最後に培養心筋細胞の生存率を求めた。不全心筋細胞における二重免疫染色では、イソプロテレノール (ISO) はミトコンドリア DNA の酸化的障害を促進させたが、ANP 存在下においては ISO による DNA の酸化的障害は抑制された。また、不全心筋細胞では、正常心筋細胞と比較して ROS の産生や Ca²⁺ spark の増加を認め、ISO 存在下では、より顕著となったが、ANP 存在下では有意に抑制され、且つ、筋小胞体内の Ca²⁺ 含有量に変化は認められなかった。不全心筋細胞の生存率は正常心筋細胞と比較して有意に低下し、ISO 存在下ではより顕著となったが、ANP 存在下において生存率の改善が認められた。</p> <p>結語: ANP は ISO によって誘導されたミトコンドリアにおける ROS の産生を抑制し、異常な Ca²⁺ leak を是正することで、心筋細胞の生存率を改善させた。このように、心不全における ANP の新たな心筋保護効果が示唆された。</p> | | | |

備考 審査の要旨は 800 字以内とすること。